

#2  
D537  
1440  
RECEIVED

FEB 07 2002

TECH CENTER 1600 2900

1600

1651



IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

In re application of

: ATTN: APPLICATION BRANCH

Toshio SUZUKI et al.

: Docket No. 2001\_1875A

Serial No. 10/022,619

:

Filed December 20, 2001

:

PROCESS FOR PREPARATION OF  
(R)-1,2-PROPANEDIOL BY MICROBES

CLAIM OF PRIORITY UNDER 35 USC 119

Assistant Commissioner for Patents,  
Washington, DC 20231

Sir:

Applicants in the above-entitled application hereby claim the date of priority under the International Convention of Japanese Patent Application No. 394493/2000, filed December 26, 2000, as acknowledged in the Declaration of this application.

A certified copy of said Japanese Patent Application is submitted herewith.

Respectfully submitted,

Toshio SUZUKI et al.

By Warren M. Cheek, Jr.  
Warren M. Cheek, Jr.  
Registration No. 33,367  
Attorney for Applicants

WMC/dlk  
Washington, D.C. 20006-1021  
Telephone (202) 721-8200  
Facsimile (202) 721-8250  
January 23, 2002

2001-1875A

Suzuki



日 本 国 特 許 庁  
JAPAN PATENT OFFICE

RECEIVED  
FEB 07 2002  
TECH CENTER 1600-2800

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office

出 願 年 月 日

Date of Application:

2000年12月26日

出 願 番 号

Application Number:

特願2000-394493

出 願 人

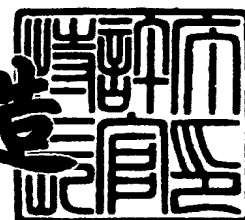
Applicant(s):

ダイソー株式会社

2001年12月14日

特許庁長官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

及 川 耕 造



出証番号 出証特2001-3108284

【書類名】 特許願

【整理番号】 175295

【提出日】 平成12年12月26日

【あて先】 特許庁長官殿

【国際特許分類】 C12P 41/00

【発明者】

    【住所又は居所】 大阪府大阪市西区江戸堀1丁目10番8号 ダイソー株式会社内

    【氏名】 鈴木 利雄

【発明者】

    【住所又は居所】 大阪府大阪市西区江戸堀1丁目10番8号 ダイソー株式会社内

    【氏名】 井戸垣 秀聡

【発明者】

    【住所又は居所】 大阪府大阪市西区江戸堀1丁目10番8号 ダイソー株式会社内

    【氏名】 中川 篤

【発明者】

    【住所又は居所】 大阪府大阪市西区江戸堀1丁目10番8号 ダイソー株式会社内

    【氏名】 畑田 美希

【特許出願人】

    【識別番号】 000108993

    【住所又は居所】 大阪府大阪市西区江戸堀1丁目10番8号

    【氏名又は名称】 ダイソー株式会社

【代理人】

    【識別番号】 100062144

    【弁理士】

    【氏名又は名称】 青山 葆

【選任した代理人】

【識別番号】 100068526

【弁理士】

【氏名又は名称】 田村 恭生

【選任した代理人】

【識別番号】 100076521

【弁理士】

【氏名又は名称】 坪井 有四郎

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 013262

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 要約書 1

【物件名】 受託証（写） 1

【提出物件の特記事項】 手続補足書により提出する。

【包括委任状番号】 9809264

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 微生物培養法による R 体 1, 2-プロパンジオールの製法

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 S 体 1, 2-プロパンジオールの資化能を有し、S 体 1, 2-プロパンジオールを単一炭素源として生育しうるシュードモナス属に属する微生物を、ラセミ体 1, 2-プロパンジオールを単一炭素源とする培地中で培養せしめ、培養物より残存する R 体 1, 2-プロパンジオールを分取することを特徴とする R 体 1, 2-プロパンジオールの製法。

【請求項 2】 微生物がシュードモナス (*Pseudomonas*) sp. DS-SI-5 株 (FERM BP-7080) である請求項 1 記載の製法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は S 体 1, 2-プロパンジオールを炭素源として資化増殖する能力を有する微生物を用いて、ラセミ体 1, 2-プロパンジオールより R 体 1, 2-プロパンジオールを分取する方法に関するものであり、本発明により得られる R 体 1, 2-プロパンジオールは、医薬品・農薬・生理活性物質などの光学活性化合物の製造において極めて重要、且つ有用な化合物である。

【0002】

【従来の技術】

光学活性 1, 2-プロパンジオールの製法に関しては、KitamuraらのBINAP触媒を用いたヒドロキシアセトンの還元法(Tetrahedron Lett., 32, 4163-4166 (1991))やJacobsenらによるCo-Salen触媒を用いた不斉水解法(Science, 277, 936-938 (1997))が知られている。

しかし、これらの製法により高光学純度の 1, 2-ジオールを得るためには、高価な化学触媒を必要とし、工業的に安価で経済的な製法とはいえない。

生物学的製法に関しては、LeeとWhitesidesによるグリセロールデヒドロゲナーゼを用いた 1-ヒドロキシー-2-プロパノンおよび 1-ヒドロキシー-2-ブタノンからの不斉還元反応による R 体 1, 2-プロパンジオールの製

法が知られている (Journal of Organic Chemistry, 51, 25-36 (1986))。

また、二階堂らによるシュードモナス属微生物の休止菌体を用いた立体選択的な酸化分解法による光学活性 1, 2-プロパンジオールの製法が知られている (特開平6-30790)。この方法では、実施例に記載のように 1, 2-プロパンジオールを立体選択的に代謝しうる微生物を別途栄養培地等で大量に培養して、得られた微生物菌体を休止菌体としてから分割反応に供しなければならない。

既に本発明者らもアルカリゲネス (Alcaligenes) s p. D S - S - 7 G 株由来の酸化的な脱ハロゲン化酵素ハロヒドリン デハイドロデハロゲナーゼを用いた製法を報告している (Tetrahedron: Asymmetry, 5, 239-246 (1994))。

しかしながら、以上述べた微生物休止菌体を利用した酸化的あるいは還元的酵素反応による製法では、NADあるいはNADPなどの補酵素を必要とし、その再生反応 (再利用) が律速反応となるため、経済的な光学活性 1, 2-プロパンジオールの製法とは言い難く、さらなる効果的で、実際の製法が求められている。

#### 【 0 0 0 3 】

##### 【発明が解決しようとする課題】

本発明は上記に示す従来の方法に比べ、安価で、且つ技術的に簡便な方法により、ラセミ体 1, 2-プロパンジオールから R 体 1, 2-プロパンジオールを製造することを目的とするものである。

#### 【 0 0 0 4 】

##### 【課題を解決するための手段】

本発明者らは、ラセミ体 1, 2-プロパンジオールより S 体 1, 2-プロパンジオールを優先的に資化分解する能力を有し、さらに S 体 1, 2-プロパンジオールを単一炭素源として資化増殖することのできる微生物を求め、鋭意研究した結果、目的とする微生物の単離に成功し、本発明を完成するに至った。

すなわち本発明は、S 体 1, 2-プロパンジオール資化能を有し、S 体 1, 2-プロパンジオールを単一炭素源として資化増殖する能力を有するシュードモナス属に属する微生物を、ラセミ体 1, 2-プロパンジオールを単一炭素源とする培地あるいは完全合成培地中で培養し、培養液より残存する R 体 1, 2-プロパ

ンジオールを分離回収することを特徴とする微生物処理による R 体 1, 2-プロパンジオールの製法である。

本発明によれば、R 体 1, 2-プロパンジオールの工業的スケールで大量生産を行う場合にも、多量の菌体を別途に培養し調製する必要がなく、種菌（スターター）としての分量だけを培養し、接種するだけでよい。つまり極言するならば一細胞の微生物がいればよい。

#### 【0005】

本発明に使用される微生物は S 体 1, 2-プロパンジオールに対して立体選択的な資化分解能を有しており、ラセミ体 1, 2-プロパンジオールを単一炭素源とする完全合成培地で増殖し、R 体 1, 2-プロパンジオールをその培地中に残存せしめることができる。

また、本発明で用いることのできる微生物、シュードモナス *s.p.* D S-I S-5 株は、R 体 3-ハロゲノ-1, 2-プロパンジオール資化能をも有しており、その資化分解反応に際して、脱ハロゲン化反応により分解資化される R 体 3-ハロゲノ-1, 2-プロパンジオールと等量のハロゲン化水素酸を生成する。

さらに、本微生物は 4-クロロ-1, 3-ブタンジオールに対して資化分解能は有していないが、S 体 4-クロロ-1, 3-ブタンジオールを優先的に脱クロル化活性し、S 体 3-ヒドロキシ- $\gamma$ -ブチロラクトンに変換することが分かっている。

この様に本微生物は、ハロゲン化ヒドリンに対して立体選択的脱ハロゲン化能を有する微生物である。これについては既に特許出願（特願平 11-337812、特願平 11-303817）している。

しかしながら、本微生物には 1, 3-プロパンジオール、3-アミノ-1, 2-プロパンジオール、1, 2-ブタンジオール、1, 2-ペンタンジオールおよび 1, 2-ヘキサンジオールに対する資化分解性は認められなかった。

#### 【0006】

##### 【発明の実施の形態】

上記の通り、本発明は S 体 1, 2-プロパンジオールの資化能を有し、S 体 1, 2-プロパンジオールを単一炭素源として資化増殖できるシュードモナス属に

属する微生物により、ラセミ体 1, 2-プロパンジオールから S 体 1, 2-プロパンジオールを資化分解し、培養液中に残存する R 体 1, 2-プロパンジオールを分取する方法である。

従って、本発明に使用される微生物はラセミ体 1, 2-プロパンジオールより S 体 1, 2-プロパンジオールを完全に資化分解するため、本反応終了後の培養液には R 体 1, 2-プロパンジオールと生育菌体以外には残存しないため、回収工程などのダウンストリームが非常に簡便である。

具体的には、ラセミ体 1, 2-プロパンジオールあるいは 3-クロロ-1, 2-プロパンジオールを単一炭素源とし、各種アンモニウム塩や硝酸塩等の無機態窒素を窒素源として、その他微量の金属塩やリン酸塩等の無機塩類を加えた完全合成培地中、あるいはブイヨン培地やペプトン培地等の有機態炭素源ならびに窒素源、そして無機栄養源を含む通常一般によく用いられる栄養培地中で本微生物を培養して種菌体を調製する。

#### 【0007】

次いで、これらから得られる培養物あるいは微生物菌体を、ラセミ体 1, 2-プロパンジオールを単一炭素源として含有する培地に接種し、さらに培養あるいは作用させ、培養液より残存する R 体 1, 2-プロパンジオールを分取すればよい。

つまり、微生物によるラセミ体 1, 2-プロパンジオールからの優先的な S 体 1, 2-プロパンジオール資化分解反応により、反応液あるいは培養液に R 体 1, 2-プロパンジオールを残存させ回収する方法である。

本反応は至適 pH、至適温度の範囲内で行うのがよい。

なお、その資化反応の進行に伴い 1 次的に生成する脂肪酸などにより pH が徐々に低下する場合、適当なアルカリ源を添加して反応液中の pH を至適範囲内にコントロールする必要がある。

例えば、炭酸カルシウム溶液、炭酸ナトリウム溶液、炭酸カリウム、炭酸アンモニウムなどの炭酸アルカリ塩水溶液、水酸化ナトリウム水溶液、水酸化カリウム水溶液、水酸化カルシウム水溶液などの水酸化アルカリ塩水溶液、あるいはアンモニア水溶液など通常、酸を中和させることができるものを用いて pH を至適範



囲内に制御するのがよい。

【0008】

本微生物を培養するための培地組成としては通常本微生物が生育する培地ならば何でも使用することができる。

例えば炭素源としてグルコース、フラクトース等の炭水化物、ラセミ体 3-クロロ-1, 2-プロパンジオール、R体 3-クロロ-1, 2-プロパンジオール、ラセミ体 3-ハロゲノ-1, 2-プロパンジオール、R体 3-ブロモ-1, 2-プロパンジオール、ラセミ体 1, 2-プロパンジオールなどのアルコール類、酢酸、クエン酸、リンゴ酸、マレイン酸、フマル酸、グルコン酸とその塩類などの有機酸、またはそれらの混合物を用いることができる。

窒素源として硫酸アンモニウム、硝酸アンモニウム、リン酸アンモニウムなどの無機窒素化合物および尿素、ペプトン、カゼイン、酵母エキス、肉エキス、コーンスチープリカー等の有機窒素化合物とそれらの混合物を挙げることができる。

その他、無機塩としてリン酸塩、マグネシウム塩、カリウム塩、マンガン塩、鉄塩、亜鉛塩、銅塩など、さらに必要に応じてビタミン類を加えてもよい。

また、高酵素活性を持った菌体を得るための酵素誘導添加物として、上記培地およびペプトン培地、ブイヨン培地などの栄養培地にラセミ体 3-クロロ-1, 2-プロパンジオール、ラセミ体 3-ブロモ-1, 2-プロパンジオールなどの 3-ハロゲノ-1, 2-プロパンジオール、あるいはラセミ体 1, 2-プロパンジオールを添加してもよい。

【0009】

本微生物の培養は常法によればよく、例えば pH を 4~10、好ましくは 5~9、培養温度は 15~50℃、好ましくは 20~37℃の範囲で振とう培養あるいは通気攪拌培養等の方法を用いて、好氣的に 20~96 時間行なうことが好ましい。

反応液中の単一炭素源としてのラセミ体 1, 2-プロパンジオールの基質濃度は 0.1~15% (v/v) が好ましく、基質は初期に一括していれてもよいし、分割添加してもよい。

反応は通常、攪拌または振とう、あるいは通気攪拌培養等の方法を用いて好気的に行われる。反応時間は基質濃度ならびにその他の反応条件により異なるが24～120時間で終了するのがよい。好ましくはガスクロマトグラフィー等の分析によりラセミ体1, 2-プロパンジオールの残存基質量が初期基質濃度に比して50%で反応を終了するか、あるいは目的とする光学活性体の光学純度を測定して終点を決定するのがよい。すなわち、基質であるラセミ体1, 2-プロパンジオール中のS体1, 2-プロパンジオールが全て分解資化された時点で反応を停止するのがよい。

【0010】

このようにして反応液中に残存するR体1, 2-プロパンジオールは活性炭吸着や、溶媒による抽出など一般的な方法で回収、精製できる。

例えば、反応液から菌体を遠心分離で除いた後、上清をエバポレーターにより濃縮し、酢酸エチル等の溶媒で抽出する。次いで抽出液を無水硫酸マグネシウムにより脱水した後、減圧下で溶媒を除去しR体1, 2-プロパンジオールのシロップを得ることができる。さらに蒸留により精製してもよい。

【0011】

本発明に使用される微生物は、S体1, 2-プロパンジオールの資化能を有し、R体1, 2-プロパンジオールを単一炭素源として資化増殖することのできるシュードモナス属に属する微生物であり、さらに好ましくはDS-SI-5株をあげることができる。本菌株は生理学的、菌学的諸性質からシュードモナス(*Pseudomonas*)属に属する細菌と同定され、工業技術院生命工学工業技術研究所に寄託番号 FERM BP-7080として寄託されている(寄託日:平成11年10月7日)。

【0012】

シュードモナス(*Pseudomonas*) s p. DS-SI-5株の生理学的、菌学的諸性質は下記に示す通りである。

1. 肉汁寒天平板培養(30℃、3日間培養)

コロニー形状の遅速	普通
コロニーの形状	円形

コロニー表面の形状	平滑
コロニーの隆起状態	凸円状
コロニーの周縁	波状
コロニーの内容容	均質
コロニーの色調	淡褐色
コロニーの透明度	無し
コロニーの光沢	無し
可溶性色素の生成	無し

【0013】

2. 肉汁寒天斜面培養 (30℃、3日間培養)

生育の良否	良好
生育状態	拡布状
コロニー表面の形状	平滑
コロニー断面の形状	扁平
コロニーの光沢	有り
コロニーの色調	淡褐色
コロニーの透明度	無し

【0014】

3. 肉汁液体培地 (30℃、3日間培養)

生育状態	良好
ガス発生	無し
培地の着色	無し
性状	沈降

【0015】

4. 肉汁寒天穿刺培養 (30℃、3日間培養)

発育の場所	表層
表面の発育状態	良好

【0016】

5. 肉汁ゼラチン穿刺培養

—

【0017】

6. 生理学テスト

硝酸塩の還元	+
V-Pテスト	-
MRテスト	-
インドールの生成	-
PPA	-
硫化水素の生産	-
リジン脱炭酸	+
クエン酸	+
デンプンの分解	-
カタラーゼ	+
ウレアーゼ	+
オキシダーゼ	+
脱窒反応	+
蛍光性色素の生成	
キング A	-
キング B	-
Pseudomonas F	-
Pseudomonas P	-
リトマスミルク	
凝固	-
還元	-
PHBの蓄積	+

【0018】

O-Fテスト

D-グルコース	0
D-ガラクトース	0
D-フラクトース	0

D-ラクトース	—
グリセロール	0
D-マンニトール	—
D-シュークロース	—

## 【0019】

## 炭素源の利用

D-グルコース	+
D-ガラクトース	—
D-フラクトース	+
D-トレハロース	—
グリセロール	—
D-マンニトール	—
D-シュークロース	—
p-ヒドロキシベンゾエート	+

## 【0020】

## 7. 形態学的諸性質

細胞の形状	桿菌
細胞の大きさ	1.3 - 1.6 $\mu\text{m}$
細胞の幅	0.4 - 0.6 $\mu\text{m}$
細胞の多形性	無し
鞭毛	極鞭毛、単
運道性の有無	+
グラム染色性	—
胞子の有無	—
抗酸性	—
カプセル	無し

## 【0021】

以下実施例をもって、本発明を詳細に説明するが本発明はこれらに限定されるものではない。なお、実施例中の%は特に記載のない限り% (w/v) を表す。

## 【0022】

## 【実施例】

## 実施例 1

下記組成：

硫酸アンモニウム	1.0%
リン酸第2ナトリウム	0.02%
リン酸第2カリウム	0.02%
リン酸第1ナトリウム	0.04%
硫酸マグネシウム	0.05%
硫酸鉄	0.001%
硫酸銅	0.0001%
硝酸マンガン	0.0001%および
炭酸カルシウム	2.0%

からなる培地 100 ml (pH 6.9) を入れた 500 ml 容のバッフル付き三角フラスコを 121℃ で 15 分間、加圧蒸気滅菌後、ラセミ体 1, 2-プロパンジオールを 1 ml 添加し、ラセミ体 1, 2-プロパンジオールを単一炭素源とする完全合成培地を作製した。次いで、ペプトン、酵母エキス、D-グルコース各 1% からなる傾斜寒天栄養培地にて予め培養した微生物 DS-SI-5 株を一白金耳、上記完全合成培地に無菌的に接種し、30℃、130 rpm の振とう条件で 2 日間培養した。

その結果培地中に生育した微生物の濁度は 8.1 OD (660 nm での濁度) で、そのときの反応液中に残存する 1, 2-プロパンジオールをガスクロマトグラフィー (カラム担体: PEG 20M、60-80 メッシュ) で分析した結果、その残存率は 45% であった。培養終了後、培養液を取り出し、遠心操作により菌体を除去し、上清液を得た。この上清液をエバポレーターで 2 ml にまで濃縮し、酢酸エチルにより抽出した。続いて無水硫酸マグネシウムにより脱水後、減圧下で酢酸エチルを除去し、1, 2-プロパンジオールのシロップを 0.36 g 得た。

## 【0023】

本物質の光学純度の測定は、得られた 1, 2-プロパンジオールの光学異性体  
を無水トリフルオロ酢酸によりトリフルオロ酢酸化した後、アステック社製のキ  
ャピラリーカラム G-TA (0.25 mm (ID) x 30 m (Length)) を用いたガス  
クロマトグラフィーにより光学異性体の分析を行なった (Suzuki et al., Tetra  
hedron: Asymmetry, Vol. 5, 239-246 (1994))。

その結果、得られた 1, 2-プロパンジオールは光学純度 99% ee 以上の R 体  
1, 2-プロパンジオールであった。光学異性体の分析条件：カラム温度, 6  
0℃; 検出器温度, 200℃; キャリヤーガス, 窒素; 流速, 0.5 ml/min; 検出器, FID; スプリット比, 200/1。グリシドールのリテンション  
タイム: R 体, 11.4 分; S 体, 17.6 分。

【0024】

#### 実施例 2

完全合成培地に添加するラセミ体 1, 2-プロパンジオールの量を 8 ml にし  
た以外は、実施例 1 と同様の方法で完全合成培地中において資化分解による光学  
分割反応を行った。

その結果培養 5 日間後の生育微生物の濁度は 5.9 OD (660 nm での濁  
度) で、そのときの反応液中に残存する 1, 2-プロパンジオールをガスクロマ  
トグラフィー (カラム担体: PEG 20M, 60-80 メッシュ) で分析した結  
果、その残存率は 26% であった。培養終了後、培養液を取り出し、実施例 1 と  
同様に処理して、1, 2-プロパンジオールのシロップを 1.8 g 得た。

本物質の光学純度の測定は、実施例 1 と同様に行い、その結果、得られた  
1, 2-プロパンジオールは光学純度 99% ee 以上の R 体 1, 2-プロパンジオ  
ールであった。 【0025】

#### 実施例 3

ペプトン、酵母エキス、D-グルコース各 1% からなる組成の栄養培地 100  
ml (pH 7.2) を入れたバッフル付きの三角フラスコ (500 ml 容) を 12  
1℃、15 分間、加圧蒸気滅菌し、液体栄養培地を作製した。予め上記組成の傾  
斜寒天栄養培地にて培養した微生物 DS-SI-5 株の一白金耳量を上記液体栄  
養培地に接種し、30℃、130 rpm の振とう条件で 24 時間培養した。その

とき培地中に生育した微生物の濁度は 1 0 . 2 O D ( 6 6 0 n m での濁度) であった。得られた菌体を遠心分離操作により集菌し、菌体を 5 0 m M のリン酸緩衝溶液 ( p H 7 . 2 ) にて 2 回洗浄し、洗浄菌体を調製した。次いでこの菌体を実施例 1 に示したラセミ体 1 , 2 - プロパンジオールを単一炭素源とする培地 1 0 0 m l に懸濁し、3 0 ° C 、 1 3 0 r p m で 2 日間反応させた。反応液に残存する 1 , 2 - プロパンジオールの残存率を実施例 1 と同様の方法で測定した結果、4 2 % であった。反応終了後、遠心分離操作により菌体を除去し上清液を得た。上清液からの 1 , 2 - プロパンジオールの回収は実施例 1 と同様に行い、0 . 3 5 g を分取した。得られた本物質の光学純度を実施例 1 と同様の方法で分析した結果、光学純度 9 9 % ee 以上の R 体 1 , 2 - プロパンジオールであった。

【 0 0 2 6 】

#### 実施例 4

下記の組成：

硫酸アンモニウム	1 . 0 %
リン酸第 2 ナトリウム	0 . 0 2 %
リン酸第 2 カリウム	0 . 0 2 %
リン酸第 1 ナトリウム	0 . 0 4 %
硫酸マグネシウム	0 . 0 5 %
硫酸鉄	0 . 0 0 1 %
硫酸銅	0 . 0 0 0 1 % および
硝酸マンガン	0 . 0 0 0 1 %

からなる培地 2 . 5 L ( p H 6 . 9 ) を入れた 5 L 容培養器 ( ジャーファーマンター、ミツワ理化学社製、Model KMJ5B ) を 1 2 1 ° C 、 1 5 分間加圧蒸気滅菌後、ラセミ体 1 , 2 - プロパンジオールを 2 5 m l 添加し、ラセミ体 1 , 2 - プロパンジオールを単一炭素源とする完全合成培地を作製した。次いで微生物 D S - S I - 5 株を予めペプトン、酵母エキス、D - グルコース各 1 % からなる栄養培地で 3 0 ° C 、 2 4 時間振とう培養し、この培養液 5 0 m l ( 2 % ( v / v ) 量 ) を上記ラセミ体 1 , 2 - プロパンジオールを単一炭素源とする完全合成培地に無菌的に接種した。そして以下の条件で 3 日間通気攪拌培養を行った。



【0027】

温度        30℃  
 通気量     0.5 L/min  
 回転数     500 rpm

なお、pHの測定および制御は連動させたpHコントローラーを用いて行い、3Nの水酸化ナトリウム水溶液によりpH6.9に制御した。また、本物質の定量ならび同定は実施例1と同様の方法により行った。

培養終了後の生育微生物の濁度は7.1 OD (660 nmでの濁度)で、そのときの1, 2-プロパンジオールの残存率は40%であった。培養液より遠心分離操作により生育した菌体を除去し、上清液を得た。上清液からの1, 2-プロパンジオールの回収は実施例1と同様に行い、9.1 gを分取した。

実施例1と同様の方法で本物質の光学純度を測定したところ、99%ee以上のR体1, 2-プロパンジオールであった。

【0028】

実施例5

完全合成培地に添加したラセミ体1, 2-プロパンジオールの量を250 mlに変えた以外は、実施例4と同様の方法で資化分解による光学分割反応を行った。

培養5日間後の生育微生物の濁度は20.1 OD (660 nmでの濁度)で、そのときの1, 2-プロパンジオールの残存率は35%であった。その後、培養液からの1, 2-プロパンジオールの回収は実施例1と同様の方法で行い、70.1 gを分取した。

実施例1と同様の方法で本物質の光学純度を測定したところ、99%ee以上のR体1, 2-プロパンジオールであった。

【0029】

【発明の効果】

本発明によればシュードモナス属に属する微生物シュードモナス sp. DS-SI-5株を用いることにより、ラセミ体1, 2-プロパンジオールよりS体1

、 2 - プロパンジオールを優先的に資化分解させ、 R 体 1, 2 - プロパンジオールを安価で、且つ工業的に簡便な方法によって製造することができる。

【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 安価で、且つ技術的に簡便な方法により、R体1, 2-プロパンジオールを製造すること。

【解決手段】 S体1, 2-プロパンジオールの資化能を有し、S体1, 2-プロパンジオールを単一炭素源として生育しうるシュドモナス属に属する微生物を、ラセミ体1, 2-プロパンジオールを単一炭素源とする培地中で培養せしめ、培養物より残存するR体1, 2-プロパンジオールを分取する。

【選択図】 なし

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [000108993]

1. 変更年月日	1990年 8月21日
[変更理由]	新規登録
住 所	大阪府大阪市西区江戸堀1丁目10番8号
氏 名	ダイソー株式会社